



TITLE:

SS18-SSX, the Oncogenic Fusion Protein in Synovial Sarcoma, Is a Cellular Context-Dependent Epigenetic Modifier(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Tamaki, Sakura

CITATION:

Tamaki, Sakura. SS18-SSX, the Oncogenic Fusion Protein in Synovial Sarcoma, Is a Cellular Context-Dependent Epigenetic Modifier. 京都大学, 2016, 博士(医科学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19632>

RIGHT:

京都大学	博士（医科学）	氏 名	玉 置 さ く ら
論文題目	SS18-SSX, the Oncogenic Fusion Protein in Synovial Sarcoma, Is a Cellular Context-Dependent Epigenetic Modifier (滑膜肉腫特異的融合タンパク SS18-SSXは細胞背景依存性のエピゲノム修飾因子である)		
(論文内容の要旨)			
【背景・目的】 軟部肉腫とは、軟部組織から発生した悪性腫瘍であり、病理学的に約 30 種類の腫瘍に分類されており、その約半数の種類の腫瘍で染色体相互転座による腫瘍特異的な融合遺伝子が同定されている。各腫瘍における起源細胞と融合遺伝子の機能の間には密接な関係があると想定されるが、大部分の軟部肉腫は起源細胞が不明であり、両者の詳細な相互作用は明らかになっていない。滑膜肉腫 (SS) は、SS18-SSX 遺伝子を特異的融合遺伝子として有する軟部肉腫である。本研究の目的は、SS 特異的な遺伝子として同定した FZD10 遺伝子の発現制御機構を指標として、細胞背景と SS18-SSX の機能との関係を解明することである。			
【方法】 肉腫細胞株を用いて、レポーターアッセイ、SS18-SSX に対するノックダウン (KD) 及び強制発現、クロマチン免疫沈降 (ChIP) を行い、FZD10 発現制御における SS18-SSX の関与を検討した。SS18-SSX の細胞背景特異的な機能については、薬剤誘導型 SS18-SSX 発現ヒト多能性幹細胞 (hPSC) を用いて、神経堤細胞 (hNCC)、さらに間葉系幹細胞 (hMSC) へ分化誘導し、各細胞において SS18-SSX の発現を誘導した後、cDNA マイクロアレイにより、SS18-SSX 誘導により発現が変動した遺伝子を網羅的に解析した。FZD10 に関しては更に発現制御領域におけるヒストンの修飾状態を解析した。細胞背景特異的な機能を規定する因子の候補として、SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体の一つである BAF47 に注目し、各細胞における SS18-SSX 誘導前後の BAF47 の発現を解析した。			
【結果】 1) SS 細胞株では SS18-SSX の KD により FZD10 の発現が低下し、骨肉腫細胞株で SS18-SSX を強制発現させると FZD10 の発現が亢進した。さらに FZD10 の制御領域に SS18-SSX が結合することから、FZD10 は SS18-SSX により正に制御される遺伝子であることが判明した。 2) hPSC、hNCC 及び hMSC の各段階における SS18-SSX 誘導後の発現変動遺伝子の多くは各細胞に特異的なものであり、SS18-SSX の標的遺伝子が細胞によって異なることが示された。さらに、SS18-SSX 誘導後の hNCC と SS 細胞株の遺伝子発現プロファイルが最も類似していた。 3) FZD10 に関しては、SS18-SSX 誘導により hPSC と hNCC では発現が亢進したが、hMSC			

<p>では亢進しなかった。このとき <i>FZD10</i> 制御領域におけるヒストン修飾は、hPSC と hNCC において転写抑制マーカー (H3K27me3) が低下し、転写活性マーカー (H3K4me3、H3Ac) が亢進したが、hMSC では有意な変化は認められなかった。</p> <p>4) SS18-SSX の誘導により hPSC と hNCC では BAF47 タンパクの発現レベルが低下したが、hMSC では有意な変化は認められなかった。各細胞において、SS18-SSX による BAF47 のタンパク分解と <i>FZD10</i> 誘導の有無が相関することから、SWI/SNF 複合体の構成要素の違いが SS18-SSX の機能を規定する因子の一つである可能性が示唆された。</p> <p>【結論】</p> <p>SS18-SSX は細胞背景依存性のエピゲノム修飾因子であり、薬剤誘導型 SS18-SSX 発現システムを用いることは、SS の起源細胞の同定、及び分子標的薬の探索に有用であると考えられる。</p>	
<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>悪性軟部腫瘍 (STS) の一つである滑膜肉腫 (SS) は、Driver mutation として <i>SS18-SSX</i> 融合遺伝子の存在を特徴とする。融合遺伝子と起源細胞の背景との間には密接な関係があると考えられているが、SS は起源細胞不明の腫瘍に分類されており、SS18-SSX の細胞背景特異的な機能については明らかにされていない。STS の網羅的遺伝子発現プロファイルの解析より、SS の起源細胞が神経堤由来細胞である可能性が示されていること、さらに SS に特異性の高い遺伝子として <i>FZD10</i> 遺伝子が同定され、FZD10 を標的とした SS の分子標的治療が有効である、というこれまでの研究結果に基づき、本研究では、<i>FZD10</i> 遺伝子の発現を指標とし、神経堤細胞系譜における SS18-SSX の細胞特異的な機能を解析した。薬剤誘導型 SS18-SSX 発現ヒト多能性幹細胞 (PSC) を用いて、神経堤細胞 (NCC)、さらに間葉系幹細胞 (MSC) を分化誘導し、各細胞において SS18-SSX を誘導した。SS18-SSX 誘導後に発現が変動した遺伝子の多くは各細胞に特異的なものであり、<i>FZD10</i> 遺伝子は PSC と NCC でのみ発現が誘導された。各細胞における <i>FZD10</i> 遺伝子発現誘導の可否は、SS18-SSX 誘導後の発現制御領域のエピゲノム修飾の変化、とくに H3K27me3 の除去と関連しており、更にクロマチン修飾因子の一つである BAF47 の存在と関連していた。以上の結果より、<i>SS18-SSX</i> 融合遺伝子の機能は、エピゲノムの状態やクロマチン修飾因子の存在などの細胞背景により規定されることが判明した。</p> <p>以上の研究は SS における <i>SS18-SSX</i> 遺伝子の機能の解明に貢献し、肉腫における細胞背景の意義の理解に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士 (医科学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 1 月 12 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>	

